植 物 分 类 与 资 源 学 报　2015, **37** (6): 779~787
Plant Diversity and Resources　DOI: 10.7677/ynzwyj201515074

珙桐种子休眠解除和萌发过程中主要抗氧化酶活性和代谢产物含量的变化*

杨　艳[1,2]，黎云祥[1,2]，胥　晓[2,3]
(1 西华师范大学环境科学与工程学院；2 西华师范大学西南野生动植物资源保护教育部重点实验室；3 西华师范大学生命科学学院，四川 南充　637009)

摘要：珙桐 (*Davidia involucrata* Baill.) 种子在休眠解除和萌发过程中，主要的抗氧化酶和代谢产物在有效清除活性氧和保证种子活力方面具有重要作用。研究以马边自然保护区采集的珙桐种子为研究对象，对其从休眠解除进入萌发阶段过程中的主要抗氧化酶的活性和代谢产物含量进行测定和分析。结果显示：层积初期，过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性均上升，但总抗氧化能力 (T-AOC) 下降。可溶性蛋白质 (Pr) 下降而抗坏血酸 (Vc)、游离氨基酸 (FAA) 含量增大；层积中期，SOD 活性和 T-AOC 呈先升高后下降的变化趋势。尽管 CAT 和 GR 活性下降，但 POD 活性保持较高的水平；层积后期，SOD 和 CAT 活性较低，POD、GR 活性和 T-AOC，FAA 和 Vc 含量整体呈上升趋势；萌发阶段，各抗氧化酶活性均有显著增加 ($P < 0.05$)，Vc 和 FAA 含量显著增加，Pr 含量降低。研究结果表明，珙桐种子可以通过各抗氧化酶活性 (POD，CAT，SOD 和 GR) 和代谢产物 (Pr，FAA 和 Vc) 间的相互作用，在种子休眠解除和萌发过程中先后有效地消除活性氧对细胞结构完整性的影响，并促进珙桐种子的形态和生理后熟，从而保证种子顺利萌发。

关键词：珙桐种子；休眠；萌发；抗氧化酶；代谢产物
中图分类号：Q 945.3　**文献标志码**：A　**文章编号**：2095-0845(2015)06-779-09

The Activity of Principal Antioxidant Enzymes and the Content of Metabolites in Dormancy Breaking and Germination of *Davidia involucrate* Seeds

YANG Yan[1,2], LI Yun-xiang[1,2], XU Xiao[2,3]
(1 *College of Environmental Science and Engineering*, *China West Normal University*; 2 *Ministry of Education Key Laboratory of Southwest China Wildlife Resources Conservation*, *China West Normal University*; 3 *College of Life Sciences*, *China West Normal University*, Nanchong, Sichuan 637009, China)

Abstract: The principal antioxidant enzymes and metabolites were reported to play a very important role in eliminating reactive oxygen species and maintaining vigour in dormancy breaking and germination of *Davidia involucrate* seeds. However, the researches on the change laws of content and activity are seldom. In present study, we chose *Davidia involucrate* seeds which collected from the Mabian Nature Reserve as experimental materials, and then investigated the activity of principal antioxidant enzymes and the content of metabolites in dormancy breaking and germination of the seeds. The results showed that the activity of peroxidase (POD), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione reductase (GR) exhibited an increasing trend but the activity of total antioxidant capacity (T-AOC) decreased greatly in early stage of stratification. Comparing with the decrease of protein (Pr), the

* 基金项目：国家自然科学基金 (31170319)，西华师范大学基本科研业务费专项 "珙桐幼苗对重金属污染的生理生化响应" (15D009)
收稿日期：2015-04-18，2015-06-23 接受发表
作者简介：杨艳 (1981-) 女，在读博士研究生，主要从事植物资源研究。E-mail：sister_yy@sina.cn

content of ascorbic acid (Vc) and free amino acid (FAA) significantly increased. In middle stage of stratification, the activity of SOD and T-AOC increased firstly and then decreased at last. The activity of POD always maintained a higher level although the activity of CAT and GR decreased greatly. In terminal stage of stratification, the activities of POD, GR, T-AOC and the content of FAA and Vc exhibited an increasing trend, while the activity of CAT and SOD maintained a low level. In germination stage, the activity of all antioxidant enzymes and the content of Vc and FAA were increased obviously ($P < 0.05$), but the content of the protein was decreased. These results suggested that *Davidia involucrata* seeds may have a good ability to efficiently remove the effects on cell structure caused by reactive oxygen species (ROS) by keeping the interaction of antioxidant enzymes and metabolites successively during the period of dormancy breaking and germination. This adjustment helps to ensure the germination of seeds by acceleration the post-ripening in morphological and physiological of progresses.

Key words: *Davidia involucrata* seeds; Dormancy; Germination; Antioxidant enzymes; Metabolites

种子是种子植物所特有的延存器官，其休眠和萌发是高等植物个体发育中的重要阶段，关系到种群的生存、繁衍和分布，具有十分重要的生态学意义（Philippi, 1993；尹华军和刘庆, 2004）。自然界中普遍存在的种子休眠现象是植物适应逆境和保护物种延续的一种策略，它是指适宜萌发条件下，成熟的种子仍不能萌发的特性（宋松泉等, 2008）。Baskin 和 Baskin（2004）将种子休眠归为了五类，即生理休眠、形态休眠、形态生理休眠、物理休眠和复合休眠。种子萌发涉及一系列生理生化和形态变化，并受到环境因素的影响，一般分为吸胀、萌动、发芽和成苗四个阶段。

19 世纪中后期，Sachs 和 Pfeffer 率先从酶学、物质转化与代谢角度探讨了种子休眠中最基本的生理生化变化规律（增田芳雄, 1980）。Khan（1989）认为，种子休眠解除的原因与呼吸作用糖代谢途径有关，即呼吸代谢途径由糖酵解（EMP）或者三羧酸循环途径（TCA）转为磷酸戊糖途径（PPP），意味着种子由休眠转向萌发状态，也是发生某些特定氧化反应的过程，此阶段会产生大量的活性氧和代谢产物。活性氧主要有，超氧自由基（O_2^-）、过氧化氢（H_2O_2）、单线态氧（$^1O_2$）、羟基自由基（-OH）等，这些类型的活性氧相互转化、协同作用，直接或间接启动膜脂的过氧化作用，造成细胞膜结构破坏、膜透性增大和电解质外渗（阮英等, 2006）。国内外研究者（Wang 和 Faust, 1994；孙艳等, 2006；吴能表和王图锦, 2006）研究了自然休眠解除过程中抗氧化系统的变化，认为活化抗氧化系统清除活性氧与 POD、CAT、SOD 等酶活性上升有密切关系；抗坏血酸、还原型谷胱甘肽等物质在非酶促系统中，是果树解除休眠的重要原因。如周小理等（2010）研究了荞麦种子萌发期多种抗氧化酶活性，如超氧化物歧化酶（SOD），过氧化氢酶（CAT），过氧化物酶（POD），抗坏血酸过氧化物酶（ASP），表明种子在萌发期产生的活性氧、自由基等对这 4 种抗氧化酶有激活作用，它们的氧化反应存在一定关联性和协同作用。柯德森等（2003）研究了抗坏血酸与种子萌发的关系，结果显示种子抗坏血酸含量的下降可能有利于呼吸途径向磷酸戊糖途径转移以及抗坏血酸含量的变化可能与抗氰呼吸密切相关，而代谢产物糖、蛋白质和氨基酸等为种子萌发提供营养物质和能量。白永富和卢秀萍（2006）研究表明烟草种子萌发期间可溶性蛋白质含量与游离氨基酸含量呈极显著正相关。李雄等（1996）研究发现辽宁山楂种子在休眠与后熟期主要利用糖类物质。杨玉珍等（2006）研究了银杏种子萌发过程中贮藏蛋白质的降解为幼苗生长提供氮源。然而，有关种子休眠和萌发过程中主要抗氧化酶活性和代谢产物含量变化规律的研究还少见报道。

珙桐（*Davidia involucrata* Bill.）属珙桐科、珙桐属，是第三纪古热带植物区系的孑遗种，被称为“植物活化石”和“绿色熊猫”，国家一级重点保护珍稀濒危植物，其种子需经过 2~3 年的层积才能萌发（苏智先和张素兰, 1999；Li, 2003）。普遍认为，珙桐种子要完成形态后熟和生理后熟才能萌发。陈坤荣（1988）、万朝琨（1988）在对珙桐果核层积过程中胚的形态变化研究中发现，刚采收的珙桐种子的胚绝大多数仍处于鱼雷形胚的晚期阶段，而进入萌发阶段的珙桐种子的胚叶原基分化为营养叶，着生绒毛，有

明显的叶脉，胚芽形态分化结束，种胚完成了形态后熟。因此珙桐种子的层积和休眠解除过程是一个后熟的需氧过程，它可能会调动种子内部的物质代谢。然而，相关的研究开展较少。目前有关珙桐的研究主要集中在对其进行引种栽培（王献博等，1995），种群特征（苏智先和张素兰，1999；黎云祥，2003），生理生态过程（陈坤荣，1988；雷泞菲等，2009），分子生物学特征（黎云祥等，2002a，b）等，而对其种子在休眠解除和萌发过程中的生理变化缺乏深入研究。由于珙桐种子在休眠解除和萌发过程中其形态和生理过程不断发生变化，因此，我们推测在该过程中，主要参与酶的活性和代谢产物的含量也会发生相应的变化，因此，我们以马边大风顶自然保护区珙桐种子为实验对象，对其在休眠解除和萌发过程中几种重要的抗氧化酶活性和代谢产物含量的变化情况进行研究，以此验证我们的推测。研究结果对于完善珙桐种子的休眠机理，探索解除种子休眠的方法提供理论参考依据。

1　材料与方法

1.1　实验材料

2013 年 1 月选取在马边大风顶自然保护区采集的饱满珙桐种子 800 粒，随即带回沙藏于西华师范大学（四川南充）苗圃内（地理坐标为 30°8′ N，106°09′ E）。沙藏厚度约为 15 cm，秋冬春季每 15 天浇水一次；夏季每 3 天浇水一次，同时覆盖遮阳网。沙藏地海拔 275 m，所在区域属于亚热带季风气候，年降雨量 980～1 150 mm，年平均温度 16.8 ℃，年日照时数 1 215～1 530 h（罗培和周申立，2007；李俊珏等，2012）。

1.2　实验方法

从种子沙藏第 1 个月（2013 年 1 月）到次年（2014 年 3 月）萌发，每月随机收集 40 粒种子，共得到 15 份样品，将样品采集后立即放入液氮中速冻，后存入超低温冰箱（-80 ℃）内待用（雷泞菲等，2009；朱利君等，2009）。待取样结束后，进行生理指标的测定，每个指标 3 次重复取平均值。

1.2.1　*抗氧化系统指标的测定*　过氧化物酶（peroxidase，POD）活性：参考李合生（2000）的愈创木酚法测定，以每分钟内 OD_{470} 变化 0.01 为 1 个酶活性单位（U）；过氧化氢酶（catalase，CAT）活性、超氧化歧化酶（superoxide dismutase，SOD）活性、谷胱甘肽还原酶（glutathione reductase，GR）活性和总抗氧化能力（total antioxidant capacity，T-AOC）的测定，均按照南京建成生物工程研究所提供测定试剂盒说明进行操作加量。

1.2.2　*代谢产物含量的测定*　游离氨基酸（free amino acid，FAA）含量：参考李合生（2000）的茚三酮比色法测定；可溶性蛋白质（protein，Pr）含量：考马斯亮兰法（0.563 $g \cdot L^{-1}$ 蛋白标准液，考马斯亮兰显色剂购买于南京建成生物工程研究所）；抗坏血酸（ascorbic acid，Vc）含量：按照南京建成生物工程研究所提供测定试剂盒进行测定。

1.3　数据处理

采用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析。平均值间的比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA）；采用 Duncan 多重比较检验（Duncan′s Multiple Range Test）；显著性水平设定为 $\alpha = 0.05$。实验数据采用 EXCEL 整理和作图。

2　结果与分析

根据层积过程中种子变化情况、层积时间以及季节因素，将珙桐种子从休眠到萌发的 15 个月分为，层积初期（第 1、2 月）、层积中期（第 3、4、5、6 月）、层积后期（第 7、8、9、10、11、12 月）和萌发阶段（第 13、14、15 月）四个阶段。其中，层积初期、层积中期和层积后期为休眠解除过程，萌发阶段珙桐种子分别选取的是破壳后下胚轴长度小于 0.5 cm，下胚轴长度大于 0.5 cm 和幼苗（高度 10 cm 左右）。

2.1　珙桐种子休眠和萌发过程中主要抗氧化酶的变化

2.1.1　*过氧化物酶（POD）和过氧化氢酶（CAT）活性变化*　过氧化物酶（POD）是普遍存在植物体内，活性较高，参与活性氧代谢过程的酶。它与植物的光合作用、呼吸作用、木质素和木栓质的合成以及生长素的氧化等都有着极为密切的关系（李合生，2000）。图 1A 表明，珙桐种子在层积过程中，POD 活性整体呈上升趋势。层积初期，POD 活性开始显著增加；层积后期，POD 活性先下降，在层积第 10 月其活性显著上升，随后珙桐种子进入萌发阶段。从所测结果可以看出，POD 活性在层积中的一些阶段标准误较大，说明种子在层积和萌发过程中个体差异较大。

过氧化氢酶（CAT）是普遍存在于植物的组织与细胞中，抑制脂质过氧化水平，清除超氧化物自由基和羟自由基的酶类，在减轻膜伤害上可能起着保护作用。CAT 是以 H_2O_2 为底物的酶，

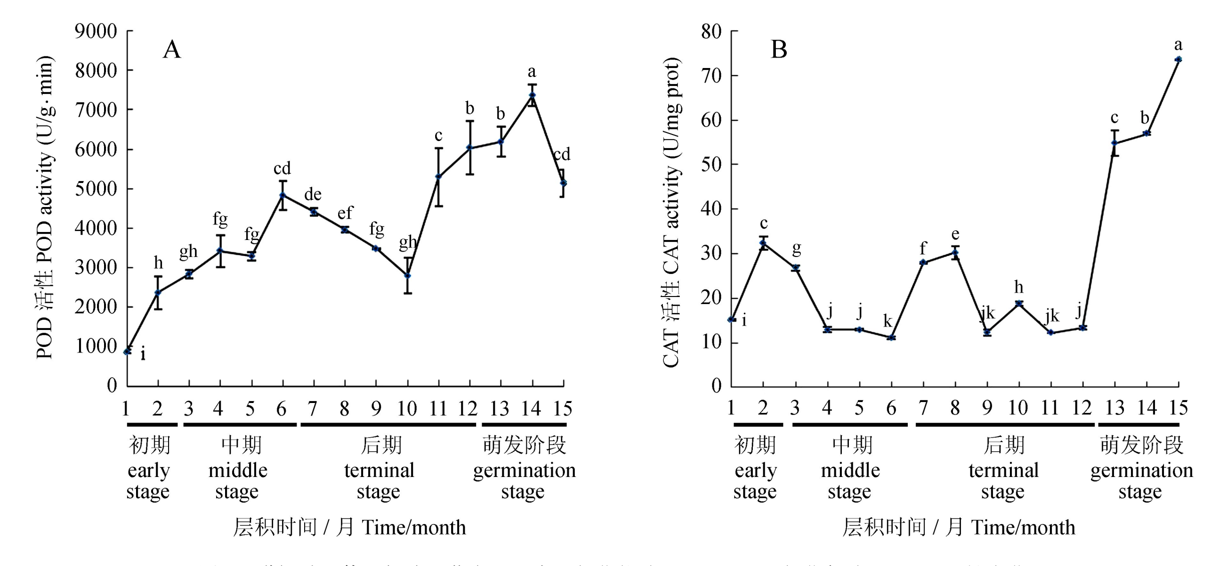


图 1 珙桐种子休眠解除和萌发过程中过氧化物酶（POD）和过氧化氢酶（CAT）活性变化

Fig. 1 The change of POD and CAT activity during the process of dormancy breaking and germination of *Davidia involucrata* seeds

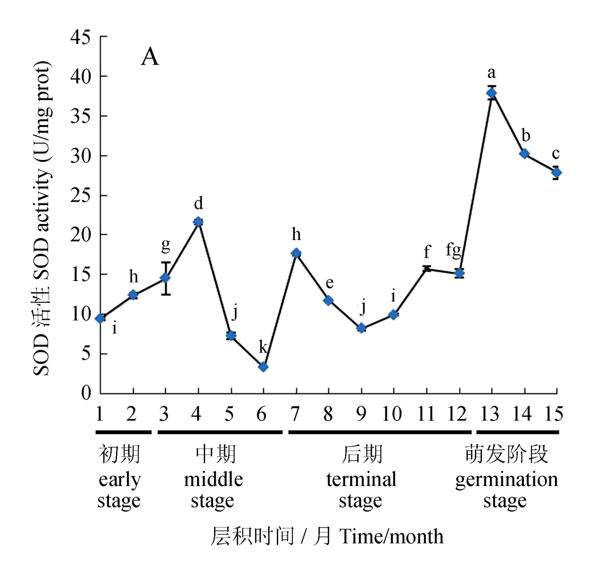
对 H_2O_2 分解有重要作用，其活性可间接反映种子活力的大小（Koornneef 等，2002）。图 1B 显示，层积初期 CAT 活性显著上升，进入层积中期其活性下降；层积后期活性显著增大后，其活性下降并处于较低水平；进入萌发阶段活性增大。

2.1.2 超氧化歧化酶（SOD）和谷胱甘肽还原酶（GR）活性变化 超氧化物歧化酶（SOD）作为植物内源的活性氧清除剂，属保护酶系统。从珙桐种子休眠期整体看，SOD 活性变化出现了几次波动（图 2A）。层积初期，SOD 活性显著增加，层积中期后，SOD 活性逐月降到最低；层积后期，其活性呈上升趋势。萌发阶段，SOD 活性上升。

谷胱甘肽还原酶（GR）是植物抗氧化酶系统中重要的一员，是抗坏血酸-谷胱甘肽循环中的关键酶，它通过参与该循环而在细胞活性氧的清除中起着重要作用（郭丽红等，2002）。实验结果表明（图 2B），层积初期，第 1 个月 GR 活性处于较低的水平，第 2 个月其活性显著增加；层积中期和层积后期，GR 活性逐渐下降，并保持较低水平；萌发阶段，GR 活性显著增加。

2.1.3 总抗氧化能力（T-AOC）的变化情况

总抗氧化能力（T-AOC）代表了机体防御体系



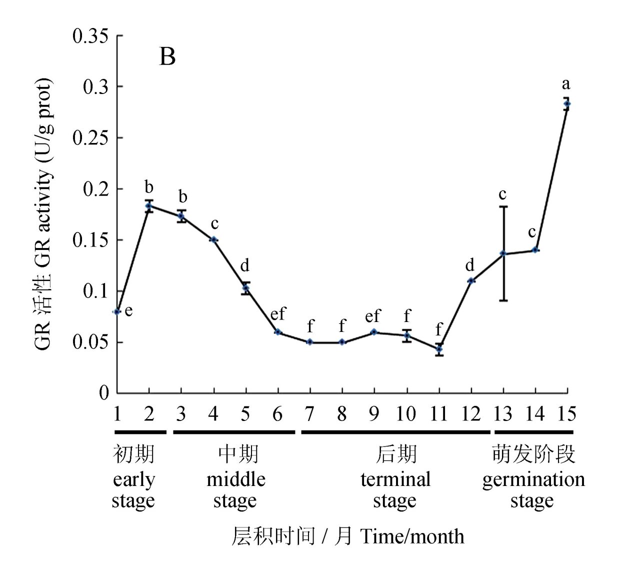


图 2 珙桐种子休眠解除和萌发过程中超氧化歧化酶（SOD）和谷胱甘肽还原酶（GR）活性的变化

Fig. 2 The change of SOD and GR activity during the process of dormancy breaking and germination of *Davidia involucrata* seeds

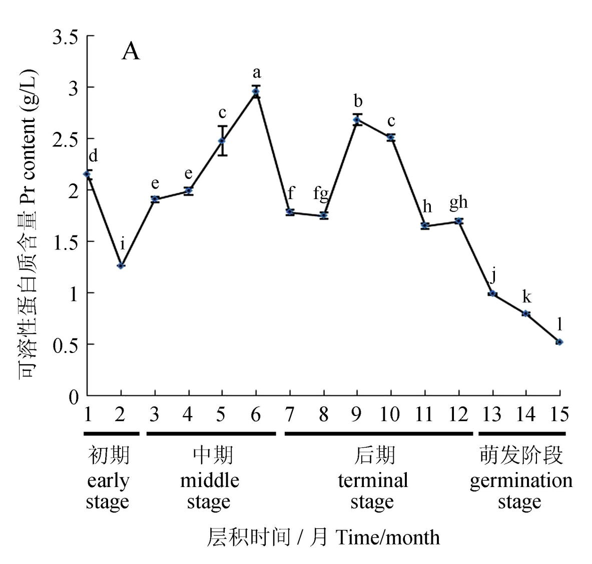
抗氧化能力的强弱（汪海等，2007）。图 3 表明，珙桐种子从休眠到萌发 T-AOC 发生了几次波动。层积初期，T-AOC 显著下降；层积中期和层积后期，T-AOC 呈下降趋势，并出现了几次波动；层积后期和萌发阶段，T-AOC 显著增加。

2.2　珙桐种子休眠和萌发过程中代谢产物的变化情况

2.2.1　可溶性蛋白质含量的变化情况　蛋白质在细胞中承担着各种生物功能，是最重要的含氮生物大分子之一。植物体内的可溶性蛋白质大多数是参与各种代谢的酶，所以可溶性蛋白质含量的变化反映了植物体内内在代谢的变化（梁新华等，2004）。通过实验，可以看出（图 4A），层积初期，可溶性蛋白质含量显著减少；层积中期，其含量增大；层积后期，可溶性蛋白质含量先减少后增加；随着从层积后期进入萌发阶段，其含量逐渐减少。

图 3　珙桐种子休眠解除和萌发过程中总抗氧化能力（T-AOC）的变化

Fig. 3　The change of T-AOC during the process of dormancy breaking and germination of *Davidia involucrata* seeds



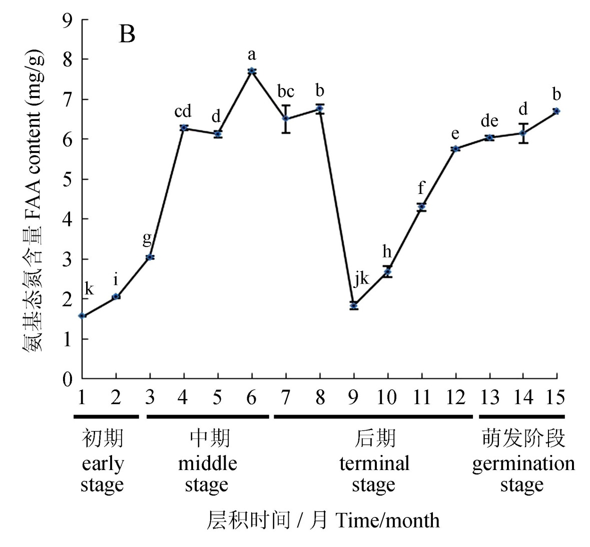


图 4　珙桐种子休眠解除和萌发过程中可溶性蛋白质（Pr）和氨基态氮（FAA）含量的变化

Fig. 4　The change of Pr and FAA content during the process of dormancy breaking and germination of *Davidia involucrata* seeds

2.2.2　游离氨基酸含量的变化情况　氨基酸是蛋白质的基本单位和分解产物。图 4B 表示，层积初期和层积中期珙桐种子中游离氨基酸含量呈上升趋势，并保持较高含量水平；层积后期，氨基酸含量极显著下降，在层积后期的中后阶段和萌发阶段，游离氨基酸含量逐渐上升。

2.2.3　抗坏血酸含量的变化情况　抗坏血酸是组织内重要的还原性物质，是自由基清除剂，它普遍存在于植物体内，是植物对膜脂过氧化物酶促防御系统中的一种重要物质，在防御膜脂过氧化、维持细胞膜的完整性上起着一定的作用（曾韶西等，1987）。图 5 表示，在珙桐种子层积过程中，抗坏血酸含量出现了几次较大波动。层积初期，其含量逐渐增大；层积中期，其含量显著下降后，并处于较低水平；层积后期，抗坏血酸含量极显著增大，在层积后期的第 3 个月（整个层积期的第 9 个月），其含量出现了最低值；随着种子逐渐进入萌发阶段，抗坏血酸含量显著增加。

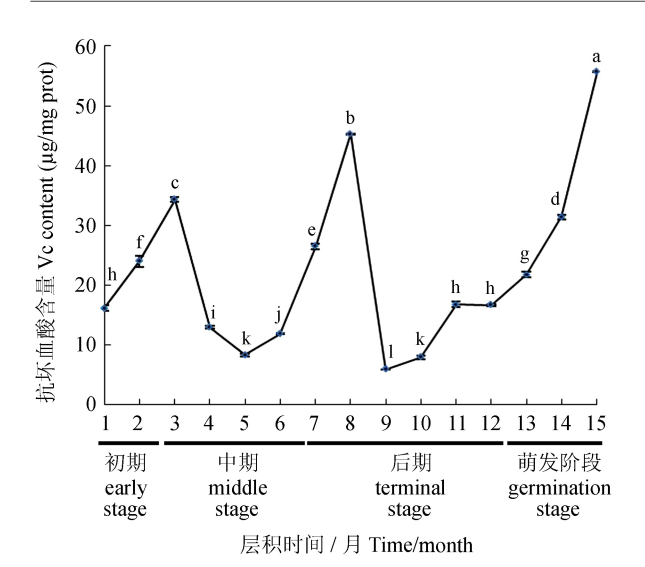


图5 珙桐种子休眠解除和萌发过程中抗坏血酸（Vc）含量的变化

Fig. 5 The change of Vc content during the process of dormancy breaking and germination of *Davidia involucrata* seeds

3 讨论

3.1 珙桐种子休眠解除过程中生理指标的变化

3.1.1 珙桐种子休眠解除过程中抗氧化酶活性的变化 珙桐种子休眠解除和萌发过程中总抗氧化能力（T-AOC）随各种抗氧化酶活性的变化发生了一定的波动，总的趋势是在后熟阶段有所提高。大量研究结果表明（谷建田等，1993；黄永菊等，2000；朱诚等，2000；庄伟健等，2002；韩克杰等，2006；田莉莉等，2006），在种子的自由基和过氧化物的清除系统中，自身存在抗氧化酶系统，其中POD、CAT、SOD和GR均处于十分重要的地位，它们可有效地清除活性氧（Reactive oxygen species，ROS）。在本实验中，POD、CAT和SOD从种子休眠解除到萌发阶段，均有几次波动，这可能与珙桐种子在休眠过程中要完成形态后熟和生理后熟，以及在萌发的过程中各种代谢过程活跃启动有关，同时，在这些活跃的代谢过程中不可避免的产生过多的活性氧，主要包括O_2^-、H_2O_2和OH^-。这些类型的活性氧相互转化、协同作用能导致细胞氧化损伤，特别是氧化作用，造成细胞膜结构破坏、膜透性增大和电解质外渗，这与黄承玲等（2010）发现迷人杜鹃种子萌发过程与抗氧化酶（SOD、CAT和POD）存在协同作用以及庞发虎等（2004）研究表明杏树休眠期枝芽内抗氧化系统酶活性与其休眠和打破休眠存在较为密切的关系相一致。细胞结构的完整性是种子活力的基础，它的丧失，特别是细胞膜受损是种子劣变的重要原因，从而影响种子的萌发率（马国英等，1991；王海华等，2003）。

实验结果表明POD、CAT、SOD和GR活性在层积初期均呈增大趋势，说明它们在这一阶段，对种子完成形态后熟和生理后熟过程中的自由基和过氧化物的消除都发挥了作用。在休眠期，珙桐种子POD活性虽然有所波动，但仍然保持较高的活性；CAT和SOD活性在整个休眠阶段虽有波动但活性不高，GR活性均处于较低水平。由于POD与IAA氧化酶有关，有些树木种子胚生长受抑制的因素是由于高浓度的吲哚乙酸（IAA）的存在（朱翔和孙丽华，2005），IAA氧化酶可能作为一种POD同工酶，能把抑制种子胚生长的高浓度IAA降到利于胚生长的适宜水平，从而促进珙桐种子的种胚完成形态后熟（Galston等，1968；武禄光，1987）。CAT是以H_2O_2为底物的酶，对H_2O_2分解有重要作用，它反映了植物体内代谢的变化，是表征细胞生长和发育的主要生化标志（Robert，1973；陈刚等，2002）。超氧化物歧化酶（SOD）是重要的清除超氧阴离子自由基（O_2^-）的酶，属保护酶系统，它能催化快速歧化反应，可将O_2^-歧化生成H_2O_2和O_2，反应产物H_2O_2可由过氧化氢酶进一步分解或被过氧化物酶利用，从而使活性氧保持较低水平，减少其对膜结构和功能的破坏（王娟和李德全，2001）。当植物衰老或处于干旱、低温、强光及重金属污染等逆境条件下，SOD活性呈现显著变化（王建华和刘鸿先，1989；陆长梅等，2000）。谷胱甘肽还原酶（GR）是植物抗氧化酶系统中重要的一员，是抗坏血酸-谷胱甘肽循环中的关键酶，它通过参与该循环而在细胞活性氧的清除中起重要的作用（郭丽红等，2000）。实验结果表明，GR活性在整个休眠期均处于较低水平，抗坏血酸-谷胱甘肽循环在这一阶段不能很好地发挥其对活性氧的消除作用。因此，从整体来看，POD在休眠期对活性氧的清除作用占主导地位。

3.1.2 珙桐种子休眠解除过程中代谢产物的变化 蛋白质是种子的主要贮藏物质之一，是构成细胞质、细胞核、质体的物质基础，又是酶的组

成成分，对酶的活性有着重要的影响，因此蛋白质在种子的生命活动中起着非常重要的作用。游离氨基酸是植物体内重要的氮代谢中间产物，同时又是蛋白质组成的基本单位。可溶性蛋白质和游离氨基酸含量的动态变化在种子内部物质代谢过程中起着重要作用（Richter，1985；何军贤和傅家瑞，1996）。在层积初期蛋白质含量降低，氨基酸含量逐渐升高，可能为珙桐种子完成种胚后熟提供了生长组织可以利用的氨基酸。在形态后熟进行的同时，珙桐种子还进行生理后熟，层积中期蛋白质含量逐渐上升，这可能是在层积阶段种子的生理活性重新活化，需要形成新的细胞，因此在随后的几个月中珙桐种子合成新的与萌发和酶的活性有关的蛋白质，也可能由于糖代谢经磷酸己糖途径还原成蛋白质，部分蛋白质降解时，非蛋白氮增加，表现为蛋白质总量的增加（聂剑初，2000）。

有研究表明（田莉莉等，2006），在种子的自由基和过氧化物的清除系统中，自身存在一些小分子抗氧化物质，如抗坏血酸等，它们可有效地清除活性氧（ROS）。抗坏血酸作为种子内的还原性物质之一，其含量与组织内还原状态以及种子磷酸戊糖途径的呼吸速率具有相关性（柯德森等，2003）。研究结果表明，在种子休眠解除过程中，Vc 出现了几次波动，但由于 GR 活性在整个休眠期均处于较低水平，因此抗坏血酸–谷胱甘肽循环在这一阶段不能很好地发挥其对活性氧的消除作用。

3.2　珙桐种子萌发阶段抗氧化酶和代谢产物的变化

3.2.1　珙桐种子萌发阶段抗氧化酶活性变化

在珙桐种子进入萌发阶段的过程中，POD、CAT、GR 和 SOD 活性均有显著增加，说明它们在萌发过程中对种子都发挥了重要的抗氧化作用。CAT 活性显著增强，对加强机体防御能力，为种子萌发提供有利条件。POD 活性明显升高，从代谢上来看，一些研究表明休眠种子的呼吸代谢以糖酵解–三羧循环（EMP-TCA）途径为主，而非休眠种子则以磷酸戊糖途径（PPP）为主，要使种子打破休眠而萌发，必须使 EMP-TCA 途径转为 PPP 途径（Robert，1973），而 POD 活性的提高有利于 PPP 途径的进行，这可能是促进休眠解除的因子之一。同时，POD 不仅是植物中一种重要的保护性酶，在种子萌发的过程中并不仅限于对 H_2O_2 的降解、减轻膜损伤，还要行使吲哚乙酸氧化酶的功能。

3.2.2　珙桐种子萌发阶段代谢产物的变化

萌发阶段，由于氨基酸进入了各种代谢，氨基酸的需求加大，蛋白质大量降解，因此，在这一阶段表现为游离氨基酸含量的增加。而 Vc 含量和 GR 活性显著增加，此时，抗坏血酸–谷胱甘肽循环对种子发挥了重要的抗氧化作用。同时，在种子萌发初期，抗坏血酸含量呈显著下降，说明在此阶段，抗坏血酸氧化酶被激活，导致其含量发生显著变化，造成了种子内氧化还原状态的变化。这种变化可能引起 NADPH 的再氧化，有利于促进葡萄糖-6-磷酸脱氢酶和 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶所催化反应的进行，从而使呼吸途径转向磷酸戊糖途径，可能有助于种子的萌发（柯德森等，2003）。

4　小结与展望

本文对引种条件下（四川南充）珙桐种子休眠到萌发的层积过程中主要的抗氧化酶和代谢产物的变化进行了研究。结果表明，珙桐种子在层积过程中保持较高活性的 POD 对清除活性氧起主要作用，萌发阶段 4 种抗氧化酶活性均显著增大，有效地清除此过程产生的活性氧；代谢产物中，蛋白质的降解为种子完成后熟提供了物质基础，从而保证了珙桐种子的萌发。同时，在今后的研究中，可以在珙桐生理研究的基础之上，运用分子生物学的手段，更深入研究影响其休眠和生长发育的基因，为破除休眠和引种提供理论基础。

〔参　考　文　献〕

李合生，2000. 植物生理生化实验原理和技术［M］. 北京：高等教育出版社，164—165，192—194，258—260

聂剑初，2000. 生物化学简明教程［M］. 北京：高等教育出版社

宋松泉，程红炎，姜孝成，2008. 种子生物学［M］. 北京：科学出版社，224

增田芳雄，1980. 植物生理学的二大先驱者——Sachs 和 Pfeffer［J］. 植物生理学通讯，(2)：43—50

Bai YF (白永富)，Lu XP (卢秀萍)，2006. The correlation between the soluble protein content and the free amino acids during germi-

nation of *Tobacco* seeds [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (植物生理科学), **22** (8): 286—288

Baskin JM, Baskin CC, 2004. A classification system for seed dormancy [J]. *Seed Science Research*, **14** (1): 1—16

Chen G (陈刚), Wang GZ (王广志), Liu XL (刘秀丽) *et al*., 2002. Effects of various treatments on germination and catalase activity of tobacco seeds [J]. *Tobacco Science & Technology* (烟草科技), **2** (2): 11—14

Chen KR (陈坤荣), 1988. The dormancy of *Davidia involucrata* seeds [J]. *Plant Physiology Communication* (植物生理学通讯), **25** (3): 24—28

Galston AW, Lavee S, Siegel BZ, 1968. The induction and repression of peroxidase isozymes by 3-indoleacetic acid in: " Biochemistry and physiolopy of Plant Growth Substarces"(F. Wightman and G. Setterfield eds) [C]. Proceedings of the 6th International Conference on. Plant Growth Substances held at Carleton University Ottawa, 455—472

Gu JT (谷建田), Kong XH (孔祥辉), Chen H (陈杭), 1993. Hydration-dehydration treatment for pre- and post-aging *Lycopersicon esculentum* Mill Seeds: physiological and biochemical changes [J]. *Acta Phytophysiologica Sinica* (植物生理学通报), **19** (2): 131—136

Guo LH (郭丽红), Chen SN (陈珊娜), Gong M (龚明), 2002. Effect of calcium on glutathione reductase of maize seedlings [J]. *Plant Physiology Communication* (植物生理学通讯), **38** (2): 115—117

Han KJ (韩克杰), Sun X (孙霞), Xing SY (邢世岩) *et al*., 2006. Studies on physiological characteristics of *Corylus avellana* L. during storage and germination [J]. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), **24** (5): 435—440

He JX (何军贤), Fu JR (傅家瑞), 1996. The research progresses in Lea proteins of seeds [J]. *Plant Physiology Communication* (植物生理学通讯), **32** (4): 241—246

Huang CL (黄承玲), Gao GL (高贵龙), Chen X (陈训) *et al*., 2010. Physiological changes of *Rhododendron agastum* Balf. f. et W. W. Sm during seed germination [J]. *Seed* (种子), **29** (5): 94—96

Huang YJ (黄永菊), Wu XM (伍晓明), Sheng JX (沈金雄) *et al*., 2000. Research on ultradry storage of soybean seeds [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences* (中国油料作物学报), **22** (3): 39—42

Kahn AA, 1989. *Seed Dormancy and Germination of Physiological and Biochemical* [M]. Beijing: Agricultural Press

Ke DS (柯德森), Sun GC (孙谷畴), Wang AG (王爱国) *et al*., 2003. Relationship between ascorbic acid and germination of seeds [J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology* (应用与环境生物学报), **9** (5): 497—500

Koornneef M, Bentsink L, Hilhorst H, 2002. Seed dormancy and germination [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, **5** (1): 33—36

Lei NF (雷泞菲), Peng SM (彭书明), Niu B (牛蓓) *et al*., 2009. Changes on edogenous phytohormone content of the *Davidia involucrate* seed during dormancy and germination process [J]. *Guihaia* (广西植物), **29** (1): 66—69

Li X (李雄), Li BZ (李秉真), Wu Y (乌云) *et al*., 1996. Physiological studies on seed dormancy and post-ripening of *Crataegus shanguinea* Pall [J]. *Journal of Inner Mongolia Institute of Agriculture & Animal Husbandry* (内蒙古农牧学院学报), **17** (4): 56—60

Li JY (李俊珏), Xu X (胥晓), Yang P (杨鹏) *et al*., 2012. Effects of aluminum stress on ecophysiological characteristics of male and female *Populus cathayana* seedlings [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), **23** (1): 45—50

Li YX (黎云祥), Su ZX (苏智先), Chen F (陈放), 2002a. Rapid extraction of gnomic DNA from leaves and bracts of dove tree (*Davidia involucrata*) [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, **20** (2): 185a—185e

Li YX (黎云祥), Chen L (陈利), Lin J (林娟) *et al*., 2002b. Suppression subtractive hybridization cloning of cDNAs of differentially expressed genes in dovetree (*Davidia involucrata*) bracts [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, **20** (3): 231—238

Li YX (黎云祥), 2003. Present state and perspectives of the biological study on *Davidia involucrate* [J]. *Journal of China West Normal University* (Natural Sciences) (西华师范大学学报: 自然科学版), **24** (3): 269—275

Li YX, 2003. Cloning, sequence analysis, and prokaryotic expression of cDNA encoding a putative non-specific lipid-transfer protein from the bracts of Dovetree (*Davidia involurate* baill.) [J]. *Journal of Plant Biology*, **46** (3): 167—172

Liang XH (梁新华), Zhang MZ (张明哲), Gao JX (高金霞), 2004. Effect of drought stress on germination and soluble protein content of glycyrrhiza glabra I. and glycyrrhiza inflata seeds during the process of primary germination [J]. *Ningxia Journal Agriculture and Forestry Science and Technology* (宁夏农业科技), (4): 6—7

Lu CM (陆长梅), Wu GR (吴国荣), Zhou CF (周长芳) *et al*., 2000. The effects of illumination on plant SOD activity [J]. *Journal of Nanjing Normal University* (Natural Science) (南京师大学报: 自然科学版), **23** (3): 96—99

Luo P (罗培), Zhou SL (周申立), 2007. Effect of land use on ecological benefit of farm belt in suburbs [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment* (生态与农村环境学报), **23** (4): 6—10

Ma GY (马国英), Xu XZ (徐锡忠), Zhang CL (章崇玲), 1991. Membrane in the process of seed aging changes and the reasons [J]. *Plant Physiology Communication* (植物生理学通讯), **27** (3): 233—236

Pang FH (庞发虎), Du JJ (杜俊杰), Liu F (刘飞), 2004. Study on changes of activity in antioxidate system enzyme in shoots and buds of dormant apricots [J]. *Journal of Hubei Institute for Nationalities* (Natural Science Edition) (湖北民族学院学报: 自

然科学版)，**22** (4)：27—30

Philippi T, 1993. Bet-Hedging germination of desert annuals: beyond the first year [J]. *American Naturalist*, **142** (3): 474—487

Richter G, 1985. *Plant Metabolism* [M]. Beijing: Science Press

Robert CH, 1973. Oxidative process and the control of seed germination in "seed ecology" [C]. London: Butter-worth, 189

Ruan Y (阮英), Liu KL (刘开朗), Shen L (申琳) *et al.*, 2006. Metabolism of dynamic changes of the reactive oxygen in tomato pericarp and seed tissues during fruit ripening and senescence [J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), **33** (1): 63—67

Su ZX (苏智先), Zhang SL (张素兰), 1999. The reproductive phenology and the influencing factors of *Davidia involucrata* population [J]. *Journal of Sichuan Teachers College* (Natural Science) (四川师范学院学院: 自然科学版), **20** (4): 313—318

Sun Y (孙艳), Cui HW (崔鸿文), Yin MA (尹明安) *et al.*, 2006. The effects of accorbic acid on cucumber seeds germination and the growth of Jin 4-3-1 cucumber tissue cultured seedlings [J]. *Journal of Hebei Agrotechnical Teachers College* (河北农业技术师范学院学报), **10** (4): 72—74

Tian LL (田莉莉), Fang JB (方金豹), Wang LR (王力荣) *et al.*, 2006. Changes of several physiological indexes during dormancy releasing in nectarine cultivar Huaguang [J]. *Journal of Fruit Science* (果树学报), **23** (1): 121—124

Wan CK (万朝坤), 1988. Anatomical study on seed dormancy of DoveTree (*Davidia involucrate*) [J]. *Journal of Central-South Forestry College* (中南林学院学报), (1): 35—39

Wang H (汪海), Zhang SL (张素兰), Su ZX (苏智先) *et al.*, 2007. The effects of accelerated aging on fargesia *Denudata* (Gramineae) seedsand the physiological differences among seeds of different sizes [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **29** (6): 677—681

Wang HH (王海华), Jiang MY (蒋明义), Kang J (康健) *et al.*, 2003. Relationship between seed germination and active oxygens metabolism in maize treated with low nickel concentration [J]. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), **29** (4): 601—605

Wang J (王娟), Li DQ (李德全), 2001. The accumulation of plant osmoticum and activated oxygen metabolism under stress [J]. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), **18** (4): 459—465

Wang JH (王建华), Liu HX (刘鸿先), 1989. The role of superoxide dismutase (SOD) in stress physiology and senescence physiology of plant [J]. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯), (1): 1—7

Wang SY, Faust M, 1994. Changes in the antioxidant system associated with budbreak in 'Anna' apple (*Malus domestica* Borkh.) buds [J]. *J Amer Soc Hort Sci*, **119** (4): 735—741

Wang XP (王献溥), Li JQ (李俊清), Zhang JX (张家勋) *et al.*, 1995. Bioecological characteristics and cultivation of the Dove tree in China [J]. *Guihaia* (广西植物), **15** (4): 347—353

Wu LG (武禄光), 1987. Preliminary research on function of peroxidase in *Acer mono* seed dormancy to germination [J]. *Journal of Northeast Forestry University* (东北林业大学学报), **15** (6): 9—14

Wu NB (吴能表), Wang TJ (王图锦), 2006. Dynamic changes of physiological indexes in the seed budding of *Raphanus sativus* L [J]. *Journal of Southwest China Normal University* (Natural Science) (西南师范大学: 自然科学版), **31** (6): 117—120

Yang YZ (杨玉珍), Li SP (李生平), Wu QX (吴青霞) *et al.*, 2006. The dynamic changes of proteins and activities of nitrogen metabolism enzymes in *Ginkgo biloba* seeds during germination [J]. *Journal of Nanjing Forestry University* (Natural Sciences Edition) (南京林业大学学院: 自然科学版), **30** (4): 119—122

Yin HJ (尹华军), Liu Q (刘庆), 2004. Advances in studies on molecular biology of seed dormancy and germination [J]. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), **21** (2): 156—163

Zeng SX (曾韶西), Wang YR (王以柔), Liu HX (刘鸿先), 1987. The effect of chilling stress on the content of ascorbic acid in rice seedlings [J]. *Acta Phytophysiologica Sinica* (植物生理学报), **13** (44): 365—370

Zhou XL (周小理), Cheng SN (成少宁), Tang W (唐文) *et al.*, 2010. Studies on antioxidant enzyme activities in buckwheat during seed germination [J]. *Industrial Microbiology* (工业微生物), **40** (4): 53—56

Zhu C (朱城), Fang ZN (房正浓), Zheng GW (增广文), 2000. The effect of HVEF treatment on lipid peroxidation of aged cucumber seeds [J]. *Journal of Zhejiang University* (Agric. & Life Sci.) (浙江大学学报: 农业与生命科学版), **26** (2): 127—130

Zhu LJ (朱利君), Su ZX (苏智先), Hu JY (胡进耀) *et al.*, 2009. Peroxidase activity and MDA content of endangered species *Davidia involucrate* [J]. *Chinese Journal of Ecology* (生态学杂志), **28** (3): 451—455

Zhu X (朱翔), Sun LH (孙丽华), 2005. A study of peroxidase activity in the process of seed germination of *Phoebe* Nees [J]. *Journal of Sichuan Forestry Science and Technology* (四川林业科技), **26** (2): 46—49

Zhuang WJ (庄伟健), Zhuang B (庄彪), Zhang SB (张书标) *et al.*, 2002. Physiological foundation research of medicament treatment storage techniques for peanut seeds Ⅰ. Effect of medicament treatment on seed vigor and radical content [J]. *Journal of Peanut Science* (花生学报), **31** (2): 1—6